

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

3

(11)Publication number : 11-079987

(43)Date of publication of application : 23.03.1999

(51)Int.Cl.

A61K 31/20

A61K 31/20

A61K 31/20

A23L 1/30

A23L 2/52

(21)Application number : 09-241061

(71)Applicant : OTSUKA PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 05.09.1997

(72)Inventor : NODA TSUNEYUKI

TOBA MASAMICHI

IMADA TAKUMA

MASAKI KYOSUKE

SHIMIZU SEIICHI

## (54) COMPOSITION FOR SUPPRESSING ACCUMULATION OF HEPATIC FAT AND FOOD ADDITIVE FOR SUPPRESSING ACCUMULATION OF HEPATIC FAT

### (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a composition capable of suppressing the accumulation of hepatic fats and effectively preventing diseases such as fatty liver and in its turn chronic hepatitis or cirrhosis by formulating a specific linoleic acid derivative as an active ingredient.

**SOLUTION:** This composition for suppressing the accumulation of hepatic fats is obtained by formulating conjugated linoleic acid as an active ingredient and including the conjugated linoleic acid together with a pharmaceutical carrier or a carrier for a food. The composition can be used as the form of a food or medicine. A conjugated linoleic acid selected from cis-9,trans-11- octadecadienoic acid, trans-10,cis-12-octadecadienoic acid, isomers thereof, nontoxic salts and esters thereof is preferred as the conjugated linoleic acid. A food additive for suppressing the accumulation of the hepatic fats is obtained by including the conjugated linoleic acid as the active ingredient.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-79987

(43)公開日 平成11年(1999) 3月23日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	F I	
A 6 1 K 31/20	ADD	A 6 1 K 31/20	ADD
	ACS		ACS
	ADN		ADN
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	Z
2/52		2/00	F
		審査請求 未請求 請求項の数5	OL (全 9 頁)

(21)出願番号 特願平9-241061

(22)出願日 平成9年(1997) 9月5日

(71)出願人 000206956

大塚製薬株式会社

東京都千代田区神田司町2丁目9番地

(72)発明者 野田 恒行

福岡県久留米市山川神代1-10-38 601号

(72)発明者 戸羽 正道

佐賀県鳥栖市村田町17-11

(72)発明者 今田 拓磨

佐賀県神埼郡神埼町大字本堀2583-7

(72)発明者 正木 恭介

福岡県久留米市長門石2-2-80-901号

(74)代理人 弁理士 三枝 英二 (外10名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 肝臓脂肪蓄積抑制組成物及び肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤

(57)【要約】

【課題】肝臓脂肪の蓄積を抑制して、脂肪肝、惹いては慢性肝炎、肝硬変等の疾患を有効に予防できる組成物を提供。を提供。

【解決手段】 共役ジェンリノール酸の有効量を製剤担体もしくは食品用担体と共に含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 共役ジェンリノール酸の有効量を製剤担体もしくは食品用担体と共に含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

【請求項2】 共役ジェンリノール酸がシス-9, トランス-11-オクタデカジエン酸、トランス-10, シス-12-オクタデカジエン酸、それらの異性体、並びにそれらの無毒性塩及びエステルから選択される少なくとも1種である請求項1に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

【請求項3】 食品形態である請求項1又は2に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

【請求項4】 医薬品形態である請求項1又は2に記載の肝臓脂肪蓄積抑制組成物。

【請求項5】 共役ジェンリノール酸を有効成分として含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は新しい肝臓脂肪蓄積抑制組成物及び肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】肝臓（肝細胞）に脂肪が過剰に蓄積される疾患である脂肪肝は、過栄養、過アルコール摂取、糖尿病、医薬品等の投与による副作用等によって惹起され、また慢性肝炎、肝硬変等の重篤な疾患の要因とも考えられ、その治療及び予防が重要な課題であるが、現在、摂取される栄養をコントロールすること以外に、安全且つ有効な治療及び予防方法は確立されておらず、そのための薬剤（医薬品）の開発も殆ど行なわれていないのが現状である。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】従って本発明の目的は、上記肝臓脂肪の蓄積を抑制して、脂肪肝、惹いては慢性肝炎、肝硬変等の疾患を有効に予防することのできる新しい組成物を提供することにある。

【0004】本発明者らは上記目的より、鋭意研究を重ねた結果、共役ジェンリノール酸の摂取乃至投与によれば、肝臓脂肪の蓄積が見事に抑制されるという事実を見いだした。本発明はこの新しい知見により完成されたものである。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】即ち本発明によれば、共役ジェンリノール酸（conjugated linoleic acid, 以下「CLA」という）の有効量を製剤担体もしくは食品用担体と共に含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制組成物、及びCLAを有効成分として含有することを特徴とする肝臓脂肪蓄積抑制用食品添加剤が提供される。

【0006】より詳しくは、本発明によれば、CLAが

シス-9, トランス-11-オクタデカジエン酸、トランス-10, シス-12-オクタデカジエン酸、それらの異性体、並びにそれらの無毒性塩及びエステルから選択される少なくとも1種である上記組成物及び添加剤、食品形態である上記組成物及び添加剤、並びに医薬品形態である上記組成物及び添加剤が提供される。

【0007】特に好ましい本発明組成物としては、乾燥重量基準でCLAを0.2～90%（重量%、以下同じ）含有するものを例示できる。

【0008】本発明組成物は、上記構成としたことに基づき、その摂取乃至投与によって、肝臓脂肪の蓄積を顕著に抑制することができる。それ理由は現在不明であるが、上記CLAの摂取乃至投与によれば、生体におけるフリーラジカルの消去に関与しているとされるグルタチオンの肝臓中における貯蔵量が有意に高値であることから、上記CLAが該グルタチオンの合成能を向上させるか或いはグルタチオン消費を抑制し、これが肝臓脂肪蓄積抑制の一因となっている可能性が考えられる。いずれにしても、本発明は従来開発された例のない新しい肝臓脂肪蓄積抑制組成物乃至添加剤を提供するものであり、これは医薬品分野や食品分野で非常に有効であると考えられる。

## 【0009】

【発明の実施の形態】以下、本発明組成物につき詳述すれば、該組成物は、有効成分としてCLAを添加配合することを必須としている。ここでCLAとしては、従来より、反芻動物由来の加工食品、特にヨーグルト等の乳製品等に含まれるもの、その精製品、化学合成品等のいずれでもよい。その製法等に関する詳細は、例えばハーラの文献（Ha, Y.L., et al., Carcinogenesis, Vol. 8, 1881-1887 (1987)）やシンらの文献（Chin, S.F., et al., Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 5, 185-197 (1992)）に記載されている。

【0010】好ましい代表的製造法としては、例えばリノール酸又はこれを含む天然の供給源、より具体的にはコーン油、サフラワー油、バター脂等と、ミルクホエー蛋白質とをほぼ当量で室温で混合して反応させる方法を例示することができ、該方法により得られるCLAは9, 11-オクタデカジエン酸及び/又は10, 12-オクタデカジエン酸及びそれらの活性な異性体を含んでいる。之等は遊離形態（液状）でもまた例えばナトリウム塩、カリウム塩等の無毒性塩やメタノール、エタノール等の適当なアルコールとのエステル（メチルエステル、エチルエステル等）の形態として、乾燥させた粉末形態でも、本発明に同様に有利に用いることができる。

【0011】上記9, 11-CLA及び10, 12-CLAには、それぞれシス, シス, シス, トランス, トランス, シス及びトランス, トランスの4つの幾何異性体が存在し、それらはいずれも本発明組成物の有効成分として用いることができる。通常、天然之等の供給源から

調製されるCLAの場合は、かかる異性体の2以上の混合物として得られ、本発明では之等は特に単離することなく混合物のままで用いるのが一般的であるが、勿論、常法に従って単離して用いることもできる。

【0012】本発明組成物は、上記CLAを有効成分として含有させることを除いては、通常の商品組成物乃至医薬品と同様に、適当な賦形剤乃至希釈剤等の担体を用いて、摂取乃至投与に適した形態に調製される。

【0013】上記食品組成物の形態としては、粉末、顆粒、錠剤、ブロック等の固剤形態及び飲料、スープ等に適した水性液、乳化液、分散液、懸濁液等の液剤形態を例示でき、之等は、適当な賦形剤、希釈剤、その他の可食性物質等の担体を用いて常法に従い調製される。

【0014】ここでは用いられる担体には、栄養源としての蛋白質、脂肪及び炭水化物が包含される。該蛋白質\*

成分	可能配合割合(wt%)	好適配合割合(wt%)	最適配合割合(wt%)
CLA	0.1~90	0.5~60	1~25
蛋白質	10~65	40~65	40~53
脂肪	5~90	5~80	10~18
炭水化物	15~70	15~40	20~35

尚、上記蛋白質量は、蛋白源としての純分換算量で表われ、これは原料物質の窒素含量をケルダール法により測定して求めたものである。

【0017】更に、本発明組成物には、必要に応じてこの種食品に通常添加配合されることがよく知られている各種の添加剤を配合することができる。該添加剤としては、例えば各種ビタミン類、ミネラル類、合成香料及び天然香料等の香料、天然甘味剤（ソーマチン、ステビア等）、合成甘味剤（サッカリン、ステビア抽出物、アスパルテーム等）、着色料等や風味物質（チーズ、チョコレート等）、更に例えばポリデキストロース、ペクチン酸及びその塩類、アルギン酸及びその塩類等の所謂ダイエタリーファイバー等を例示することができる。之等は1種単独でもまた2種以上組合せても利用できる。之等添加剤の配合割合は、特に限定されるものではないが、通常本発明組成物100重量部に対して0~20重量部程度の範囲から選択されるのが一般的である。

【0018】本発明組成物は、上記各成分を混合して調製され、その調製方法は特に制限されるものではないが、例えば脂溶性成分（油脂及びその他の油脂溶解性原料成分）に、必要に応じてレシチン、シュガーエステル等の通常慣用される乳化剤及び蛋白質、糖質等の乳化補助剤を加え、混合物を常法に従い機械的に乳化する方法を採用でき、これにより、本発明組成物を調製できる。

【0019】かくして得られる本発明組成物（液剤形態の本発明食品）は、これを適当な容器に充填した後、レトルト殺菌（120℃、20分）して保存性を有する製品とすることができ、これは直接又は適宜希釈して利用できる。

【0020】上記の如くして調製される飲食品形態の本

\* としては、例えばカゼイン及びその塩類、ゼラチン及びその塩類、水溶性ゼラチン（酵素分解ゼラチン等）、全脂粉乳、脱脂粉乳、大豆蛋白、コーングルテンミール、小麦蛋白等を、脂肪としては、例えば大豆油、オリーブ油、中鎖トリグリセリド（MCT）、綿実油、ヒマワリ油、カカオ脂、ゴマ油、米油、サフラワー油、落花生油、パーム油、菜種油等を、また炭水化物としては例えばデキストリン、蔗糖、果糖、ブドウ糖等の単糖類、麦芽糖、マルトース等の二糖類、フラクトオリゴ糖、ラクトオリゴ糖、ガラクトシルラクトース、ラクトシュクロース等のオリゴ糖等をそれぞれ例示することができる。

【0015】特に好ましい本発明組成物における上記各成分の配合割合は、以下の範囲から選択される。

【0016】

発明組成物の摂取量は、これを摂取するヒトの年齢、体重、性別、肝臓脂肪の蓄積の程度等に応じて適宜決定でき、特に限定的ではないが、通常、乾燥重量として1回約10~30g、全容量として約50~300ccの範囲から選択されるのがよい。

【0021】本発明組成物は、また、上記有効成分としてのCLAと共に、適当な製剤担体を用いて一般的な医薬製剤組成物の形態に調製して実用することもできる。該製剤担体としては、製剤の投与単位形態に応じて、通常使用される充填剤、増量剤、結合剤、付湿剤、崩壊剤、表面活性剤、滑沢剤等の希釈剤あるいは賦形剤適宜選択使用することができる。

【0022】上記医薬製剤の投与単位形態としては、各種の形態が治療目的等に応じて選択でき、その代表的なものとしては錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、注射剤（液剤、懸濁剤等）、軟膏剤、輸液剤等が挙げられる。

【0023】錠剤の形態に成形するに際しては、上記製剤担体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸、リン酸カリウム等の賦形剤、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム等の崩壊剤、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エ



ステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド等の界面活性剤、白糖、ステアリン、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤、第 4 級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤、グリセリン、デンプン等の保湿剤、デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤等を使用できる。

【0024】更に錠剤は必要に応じ通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠あるいは二重錠、多層錠とすることができる。

【0025】丸剤の形態に成形するに際しては、製剤担体として例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤、アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノール等の結合剤、ラミナラン、カンテン等の崩壊剤等を使用できる。

【0026】液剤、乳剤、懸濁剤等の注射剤乃至輸液剤として調製される場合、之等は殺菌され且つ血液と等張であるのが好ましく、之等の形態に成形するに際しては、希釈剤として例えば水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類等を使用できる。尚、この場合等張性の溶液を調整するに十分な量の食塩、ブドウ糖あるいはグリセリンを本発明組成物中に含有させてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を添加してもよい。

【0027】更に、医薬製剤中には、必要に応じ着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等や他の医薬品を含有させることもできる。

【0028】ペースト、クリーム、ゲル等の軟膏剤の形態に成形するに際しては、希釈剤として例えば白色ワセリン、パラフィン、グリセリン、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト等を使用できる。

【0029】かくして調製される医薬製剤形態の本発明\*

シス-9, トランス-11-CLA / トランス-9, シス-11-CLA	41%
トランス-10, シス-12-CLA	44%
シス-10, シス-12-CLA	10%
その他	5%

【0037】

\* 組成物中に含有されるべき有効成分としての CLA の量は、特に限定されず広範囲より適宜選択されるが、通常医薬製剤中に約 10 ~ 90 % 程度含有されるものとするのがよい。

【0030】上記医薬製剤の投与方法は特に制限がなく、各種製剤形態、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等に応じて決定される。例えば錠剤、丸剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤及びカプセル剤は経口投与され、注射剤乃至輸液剤は単独で又はブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与され、更に必要に応じ単独で筋肉内、皮内、皮下もしくは腹腔内投与される。

【0031】上記医薬製剤の投与量は、その用法、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等により適宜選択されるが、通常有効成分である本発明化合物の量が 1 日当たり体重 1 kg 当たり約 0.5 ~ 20 mg 程度とするのがよく、該製剤は 1 日に 1 ~ 4 回に分けて投与することができる。

【0032】

【実施例】以下、本発明を更に詳しく説明するため、本発明組成物の調製例を実施例として挙げ、次いで本発明組成物を含む食品組成物の肝臓脂肪蓄積抑制効果を明らかにする試験例を挙げる。尚、各例中、% とあるは重量 % を示す。

【0033】

【実施例 1】シス-9、トランス-11-オクタデカエン酸 300 mg 又は 500 mg を含有するソフトカプセルを調製した。

【0034】

【実施例 2】下記表 1 及び表 2 に示す蛋白質成分、糖質成分、CLA 成分及びその他の成分の所定量を水に加えて、飲料形態の本発明組成物を調製した。

【0035】尚、用いた CLA 成分は、Nu-Chek-Prep, Inc. より購入した遊離脂肪酸の形態の CLA 混合物である。その組成は次の通りである。

【0036】

【表 1】

処方例No.	1	2	3	4	5
蛋白質含量(g/100ml)	5.2	6.8	5.7	5.0	5.6
糖質含量 (g/100ml)	15.0	15.5	11.9	12.6	9.8
脂質含量 (g/100ml)	2.2	2.3	2.2	2.2	2.1
エネルギー (kcal)	100	110	90	90	80
蛋白質成分					
カゼイン	3.3	4.5	-	-	-
カゼインナトリウム	-		2.2	2.6	3.3
カゼインカルシウム	-	-	1.1	0.6	-
酵素分解カゼイン	-	-	0.7	2.2	-
酵素分解大豆蛋白	-	-	0.2	-	0.5
酵素分解ゼラチン	2.5	3.1	2.0	-	2.2
糖質成分					
デキストリン	-	-	8.4	-	-
マルトトラオースシロップ*	20.0	14.9	-	10.3	-
マルトトリオースシロップ*	-	5.8	8.4	-	13.1
マルトースシロップ*	-	-	-	6.5	-
C L A成分	2.2	2.3	2.2	2.2	2.1
その他の成分					
ビタミン	適量	適量	適量	適量	適量
ミネラル	適量	適量	適量	適量	適量
香料	適量	適量	適量	適量	適量

【0038】

【表2】

処方例No.	6	7	8	9	10
蛋白質含量 (g/100ml)	8.9	5.0	3.5	5.1	5.0
糖質含量 (g/100ml)	3.0	8.7	17.0	12.6	8.7
脂質含量 (g/100ml)	3.4	1.7	2.0	2.2	1.7
エネルギー (kcal)	70	70	100	90	70
蛋白質成分					
カゼイン	-	-	-	-	-
カゼインナトリウム	4.0	2.9	2.6	3.2	3.3
カゼインカルシウム	-	-	-	-	-
酵素分解カゼイン	0.6	0.4	1.2	-	-
酵素分解大豆蛋白	0.2	-	-	0.3	-
酵素分解ゼラチン	2.6	2.1	-	2.0	2.1
糖質成分					
デキストリン	3.1	-	-	-	13.0
マルチトールシロップ*	-	6.0	22.7	16.8	-
マルチトリオールシロップ*	1.3	-	-	-	-
マルチシロップ*	-	5.6	-	-	-
CLA成分	3.4	1.7	2.0	2.3	1.7
その他の成分					
ビタミン	適量	適量	適量	適量	適量
ミネラル	適量	適量	適量	適量	適量
香料	適量	適量	適量	適量	適量

【0039】

【実施例3】抗酸化ビタミン、CLA成分、乳化剤、油  
 剤、糖質成分、有機酸、オリゴ糖及びその他の成分を下  
 記表3及び表4に示すそれぞれの配合量で用いて、飲料 30  
 形態の本発明組成物を調製した。尚、CLA成分中のC\*

\* LA混合物は、実施例2に示すそれと同一のものであ  
 る。

【0040】

【表3】

処方例No.	1	2	3	4	5	6	7	8
抗酸化ビタミン(mg/100ml)								
β-カロチン	1	-	3	5	30	0.3	1	1
抽出カロチン	-	1	-	-	-	-	-	-
アスコルビン酸	60	50	120	1000	100	20	60	30
ビタミンE		-	2	5	-	-	-	2
C L A (mg/100ml)								
シス-9,トランス-11-CLA	300	300	600	1000	500	100	300	300
C L A 混合物	-	-	-	-	-	-	-	-
乳化剤 (mg/100ml)	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
油剤 (mg/100ml)	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
糖質成分 (g/100ml)								
異性化糖	-	-	-	2	-	-	-	-
精製白糖	-	-	-	1	-	-	-	2
果糖	7	-	7	4	5	2	8	8
ブドウ糖	-	8	2	-	2	-	1	-
有機酸 (mg/100ml)								
クエン酸	500	600	600	200	500	200	400	400
酒石酸	-	-	200	-	100	-	-	-
リンゴ酸	-	-	-	-	100	-	-	100
フラクトオリゴ糖(g/100ml)	-	-	-	-	-	3	-	1
炭酸ガス容量 (Vol)	-	-	-	-	-	-	1	2
香料・甘味料	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量

【0041】

【表4】

処方例No.	9	10	11	12	13	14	15	16
抗酸化ビタミン(mg/100ml)								
リコペン	1	-	3	5	30	0.3	1	1
ルテイン	-	1	-	-	-	-	-	-
アスコルビン酸	60	50	120	1000	100	20	60	30
ビタミンE	-	-	2	5	-	-	-	2
CLA (mg/100ml)								
シス-9, トランス-11-CLA	-	-	-	-	-	-	-	-
CLA混合物	300	300	600	1000	500	100	300	300
乳化剤 (mg/100ml)	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
油剤 (mg/100ml)	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量
糖質成分 (g/100ml)								
異性化糖	-	-	-	2	-	-	-	-
精製白糖	-	-	-	1	-	-	-	2
果糖	7	-	7	4	5	2	8	8
ブドウ糖	-	8	2	-	2	-	1	-
有機酸 (mg/100ml)								
クエン酸	500	600	600	200	500	200	400	400
酒石酸	-	-	200	-	100	-	-	-
リンゴ酸	-	-	-	-	100	-	-	100
テトラスクロス (g/100ml)	-	-	-	-	-	3	-	1
炭酸ガス容量 (Vol)	-	-	-	-	-	-	1	2
香料・甘味料	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量	適量

## 【0042】

【試験例1】この試験は、生後18週頃より肥満を呈し、内臓や肝臓に脂肪が蓄積し、耐糖能異常をきたす遺伝的糖尿病モデルラット（OLETFラット、大塚製薬株式会社）及び対照ラット（LETOラット、大塚製薬株式会社）を用いて、CLAの摂取が之等ラットの肝臓における脂肪の蓄積に及ぼす影響を調べたものであり、次の通り実施された。

## 【0043】（1）実験動物及びその飼育

5週齢OLETFラット及びLETOラット（特開平4-252129号公報参照）を1週間の予備飼育の後試験に供した。各ラットを次の3群（1群8匹ずつ）に分け、各群ラットをそれぞれ以下に示す飼料にて18週間飼育した。

【0044】1群＝コントロール食／LETO群

2群＝コントロール食／OLETF群

3群＝0.5%CLA食／OLETF群

## （2）飼育

飼育温度は $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ とした。

【0045】飼育室の照明は朝7時から夜7時を明期とした。食餌は自由摂取させた。コントロール食としてAIN-76精製飼料（成長期ラットの標準飼料）を、ま

た0.5w/w%CLA食として、該コントロール食に0.5%濃度となる量のCLAを添加した食をそれぞれ摂取させた。1日当たりの平均飼料摂取量は、 $28.06 \pm 1.96\text{g}$ であり、従って、3群における1日当たりのCLA摂取量は、 $0.14 \pm 0.01\text{g}$ となった。

【0046】尚、試験期間中水は自由摂取させた。またCLAとしては、Nu-Chek-Prep, Inc.より購入した遊離脂肪酸の形態のCLAを用いた。その組成は前述した実施例2に示す通りである。

## 【0047】（3）脂質重量及びトリグリセライド量の測定

上記飼育期間終了後、各群ラットを屠殺し、肝臓を摘出して、該肝臓の脂質を抽出した後、重量法に従って総脂質重量を求めた〔フォルシュらの方法〔Folch, J., Lee, M., and Sloane-Stanley, G.H., J. Biol. Chem., 226, 497-509 (1957)〕。また、肝臓トリグリセライド量を和光純薬工業株式会社製測定キットであるトリグリセリドテストワコーを用いて測定した。グルタチオンの分析は、トヨオカらの方法を改変したHPLC法にて行なった〔Toyooka, T., et al., Biomed. Chromatogr., 3, 166-172 (1989)〕。

## 【0048】（4）結果

得られた結果を下記表5に示す。

【0049】

\*【表5】

\*

群	ラット	飼料	肝臓脂質含量 (mg/g肝臓)	トリグリセライド量	GSH ( $\mu\text{mol/g}$ 肝臓)
1	LETO	コントロール食	59.9 $\pm$ 2.4	9.4 $\pm$ 2.4	5.35 $\pm$ 1.21
2	OLETF	コントロール食	162.0 $\pm$ 31.8	115.8 $\pm$ 33.9	4.61 $\pm$ 0.56
3	OLETF	CLA食	98.2 $\pm$ 13.2	46.6 $\pm$ 12.3	5.69 $\pm$ 0.65

【0050】上記表より、以下のことが明らかである。  
即ち、同一コントロール食の摂取の場合、遺伝的糖尿病モデルラットであるOLETFラットは、その対照ラットであるLETOラットに比較し、総脂質重量、トリグリセライド量とも有意に高値を示した。これに対して、0.5%CLAを含む飼料を摂取させたOLETFラットは、コントロール食を摂取させたOLETFラットに※

※比較し、総脂質重量、トリグリセライド量とも有意に低値を示した。

【0051】尚、飼料摂取量、体重及び脂肪組織重量に関して、3群として用いた各OLETFラット間では有意な差は認められず、CLA摂取による個体差の影響はなかった。

フロントページの続き

(72)発明者 清水 精一

佐賀県鳥栖市元町1237-2 1001号